

## Dysproteinemia に 関 す る 研 究

— Hypoalbuminemia と血中遊離脂肪酸の動態について —

登坂 松三 山田 弘仁 高橋 陽

札幌医科大学内科学第一講座 (主任 和田武雄教授)

### Studies on Dysproteinemia

— On Relation between Hypoalbuminemia and Fluctuation  
of Free Fatty Acid in Blood —

Matsumi TOSAKA, Kōnin YAMADA  
and Akira TAKAHASHI

Department of Internal Medicine (Section I), Sapporo Medical College  
(Chief: Prof. T. Wada)

In order to study the role of serum albumin by lipolysis of fat metabolism, experiments were made clinically and experimentally, and the results obtained were as follows.

1. In the tests with  $^{131}\text{I}$ -triolein and butter administration on patients with liver cirrhosis, nephrotic syndrome and normal control subjects, a decrease of fat uptake was seen in patients with liver cirrhosis as compared against patients with nephrotic syndrome and normal controls a decrease of clearing activity of exogenously administered fat (butter) was seen in patients with nephrotic syndrome.

2. Significant increases of serum albumin level were seen after butter administration not only in normal control subjects but in patients with liver cirrhosis and with nephrotic syndrome.

3. In animal experiments using cirrhotic and nephrotic rats, a decrease in fat absorption was seen in cirrhotic rats compared with those in normal and nephrotic rats.

4. Increases of serum albumin levels after butter administration were also seen in normal control rats, and also in rats with cirrhosis and nephrotic syndrome. The rats with a serum albumin increase were higher in the latter two rat groups than the normal control.

5. Although approximately 90% of free fatty acid (FFA) were found in serum albumin two hours after administration of butter in normal controls and rats with cirrhosis of the liver, only about 50% of FFA were found in serum albumin in rats with nephrotic syndrome.

Thus, it is conjectured that serum albumin plays an important role as a carrier of free fatty acids not only in fasting state but also in lipolysis of fat metabolism.

### 緒 言

血清遊離脂肪酸 (free fatty acid; FFA) は血中脂肪酸転送系の中で5~10%を占めるにすぎないが、その turnover rate はきわめて早く、中性脂肪 (triglyceride; TG) のほぼ2倍程度に脂肪酸の移動を可能にしている<sup>1)</sup>とされる。空腹時にみられる血清 FFA は cyclic AMP の関与<sup>2)</sup>の下にホルモン感性 lipase によって脂肪組織の TG から水解されて流血中に出現するが、主として血清 albumin (Alb) と結合<sup>3)</sup>して輸送される。脂肪の経口的摂取に続いて流血中に出現する chylomicron は、lipoprotein lipase (LPL)<sup>4,5)</sup>によってその TG の速やかな水解をみると共に脂肪酸は種々の組織細胞にとり込まれるが、この場合の遊

離脂肪酸の処理にも血清 Alb が関与するものと推測される。しかしこの様な内因性・外因性脂肪の処理に果たす血清 Alb の役割についてはきわめて知見に乏しい。これらの点に関連して特に低 Alb 血症を呈する種々の病態における脂肪代謝の一面を明らかにすべく、以下の臨床的ならびに実験的研究を行った。

### 臨床的研究

#### A. 方 法

##### 1. 対 象

後述の屈折法ならびに電気泳動法による分画測定上、教室における正常成人の血清 Alb 濃度は  $4.57 \pm 0.94\text{g}/100\text{m}\ell$  ( $m \pm 2\sigma$ ) であるから、本研究では  $3.5\text{g}/100\text{m}\ell$  以下の例を

低 Alb 血症と判定した。このような条件下ではほぼ同一時期に選んだ肝硬変症 4 例 (男子 4, 46~64 歳), ネフローゼ症候群 4 例 (男子 2, 女子 2, 21~55 歳) と正常対照 4 例 (男子 2, 女子 2, 24~40 歳) について以下の実験を試みた。

## 2. $^{131}\text{I}$ -triolein 吸収試験およびバター負荷試験

$^{131}\text{I}$ -triolein の血中導入率をみるため Williams<sup>6)</sup> らの方法に従い循環血流量を測定した。すなわち,  $^{131}\text{I}$ -RISA (SA 10  $\mu\text{C}/\text{mg}$ , Dainabot Lab.) 10  $\mu\text{C}$  を生理食塩水 20 ml に稀釈して肘静脈より注射し, 10 分後に対側肘静脈より採血して放射活性を測定し, 次式により循環血流量を算出した。

$$\text{循環血流量 (ml)} = \frac{\text{投与した全放射活性 (cpm)}}{\text{血液 1 ml 中の放射活性 (cpm)}}$$

バター負荷のためには早朝空腹時に採血した後,  $^{131}\text{I}$ -triolein cap. (100  $\mu\text{C}/\text{cap.}$ , Dainabot Lab.) 1 cap. とバター (脂質 27.2, 蛋白質 25.5, および含水炭素 3.6% 含有雪印製品) 体重 1 kg 当り 1 g を投与し, 6~8 時間にわたり経時的に血液 1 ml 中の放射活性を測定して血中導入率を次式により算出した。

$$\text{\textit{^{131}I-triolein 血中導入率}} = \frac{\text{血液 1 ml 中の放射活性 (cpm)} \times \text{循環血流量} \times 100}{\text{投与した全放射活性 (cpm)}}$$

なお同時に採血した血液は血清分離後脂質および蛋白質の測定に用いた。

## 3. 脂質測定法

以下の各項について組成を分析した。

### a) 血清 TG

Van Handel-Zilversmit 法の春日変法<sup>7)</sup>に従って neutral glyceride-glycerol を測定し, diglyceride, monoglyceride も含めて tripalmitin 量として表わした。

### b) 血清 FFA

Laurell の TAC 法<sup>8)</sup>によって測定し, palmitin 酸量として表わした。

## 4. 蛋白質測定法

以下のごとく行った。

### a) 血清総蛋白濃度

屈折法<sup>9)</sup>によって測定したが, 従来測定における正常対照値は  $7.54 \pm 0.74 \text{ g}/100 \text{ ml}$  を示す。

### b) 血清 Alb および globulin 分画濃度

セルロース膜電気泳動法によって血清蛋白質を分画し, Alb とともに各 globulin (glob) 分画比を求め, 血清総蛋白濃度から各々の濃度を算出した。

## B. 成績

### 1. $^{131}\text{I}$ -triolein 血中導入率よりみた脂肪吸収能

Table 1 に示すごとく, 正常対照群においては  $^{131}\text{I}$ -triolein 投与後 6 時間後の血中導入率は平均 11.1% に達し, 以後漸減する。一方肝硬変症群についての導入率の平均は, 4 時間目 5.85%, 6 時間目 10.25% と, 対照群よりも低値を示す。しかしネフローゼ症候群では 4 時間目 13.59%, 6 時間目 15.97% と, 対照群よりも 4 時間目以後の導入率が高値を示して注目された。

Table 1  $^{131}\text{I}$ -triolein Incorporation Rates (%)

Subj. (no)	Time (hr.)					
	1	2	3	4	6	8
Normal (4)	$3.00 \pm 2.98$	$5.99 \pm 3.45$	$9.35 \pm 3.03$	$10.25 \pm 2.77$	$11.10 \pm 2.18$	$9.26 \pm 1.93$
Cirrhosis of the Liver (4)	$0.70 \pm 0.63$	$3.31 \pm 3.48$	$4.56 \pm 3.57$	$5.85 \pm 3.66$	$10.25 \pm 0.24$	$10.64 \pm 3.07$
Nephrotic Syndrome (4)	$1.23 \pm 1.24$	$4.53 \pm 3.21$	$9.37 \pm 4.05$	$13.59 \pm 4.34$	$15.97 \pm 5.78$	$14.80 \pm 4.59$

## 2. バター負荷による血清 TG および血清 FFA の変動

### a) 血清 TG について

バター負荷前後の血清 TG の変動についてはその成績を Table 2 に示したが, 正常対照群の前値平均は  $77.4 \pm 11.4 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  であるが, 負荷後は 3 時間目に最高値に達し, 以後漸減して 6 時間目の平均は  $92.0 \pm 35.0 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  とほぼ前値に復する。この点肝硬変症群では前値の平均  $58.9 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  に対し, 負荷後の増加は 2 時間目  $81.2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ , 3 時間目  $99.0 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  と極めて軽度であるが, 6 時間目においても  $93.4 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  を示して旧値まで減少しない。一方ネフローゼ症候群では前値の平均はすでに

$328.2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  と高値を示すが, 負荷後にはさらに著明に増加して 2 時間目  $458.3 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ , 4 時間目  $529.1 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  を示すと共に, 6 時間後においても平均  $526.4 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  と前値まで復帰せず注目された。

### b) 血清 FFA について

血清 FFA 値については Table 3 にみるごとく, 対照群の前値の平均は  $439.0 \pm 109.4 \mu\text{Eq}/\ell$  であるが負荷後 1 時間目には  $390.0 \mu\text{Eq}/\ell$  を示して前値よりもむしろ低下する。しかしその後次第に上昇して 6 ならびに 8 時間後にはそれぞれ平均  $730.5$ ,  $910.0 \mu\text{Eq}/\ell$  と前値のほぼ 2 倍の増加を示した。一方肝硬変症群においては負荷前値は平均  $369.0 \pm 122.1 \mu\text{Eq}/\ell$ , 負荷後 3 時間目  $410.0 \pm 121.8 \mu\text{Eq}/\ell$ , 6 時

**Table 2** *Changes of Serum Triglyceride Levels (mg/100 mℓ) After Butter Administration (1 g/kg B. W., P. O.)*

Subj. (no)	Time (hr.)							
	0	0.5	1	2	3	4	6	8
Normal (4)	77.4 ± 11.4	73.5 ± 39.2	99.6 ± 34.3	122.9 ± 24.2	133.0 ± 22.5	130.0 ± 32.9	92.0 ± 35.0	63.8 ± 29.9
Cirrhosis of the Liver (4)	58.9 ± 29.9	50.9 ± 12.8	57.3 ± 20.5	81.2 ± 18.9	99.0 ± 16.1	76.6 ± 13.6	93.4 ± 12.0	
Nephrotic Syndrome (4)	328.2 ± 135.1	365.9 ± 126.8	400.8 ± 138.6	458.3 ± 199.4	503.1 ± 169.1	529.1 ± 175.1	526.4 ± 167.1	

**Table 3** *Changes of Serum FFA (μEq/ℓ) After Butter Administration (1 g/kg B. W., P. O.)*

Subj. (no)	Time (hr.)							
	0	0.5	1	2	3	4	6	8
Normal (4)	439.0 ± 109.4	427.3 ± 138.5	390.0 ± 72.7	462.5 ± 158.0	584.0 ± 288.2	571.5 ± 89.5	730.5 ± 187.3	910.0 ± 356.0
Cirrhosis of the Liver (4)	369.0 ± 122.1	444.0 ± 169.1	346.5 ± 45.8	432.5 ± 181.8	410.0 ± 121.8	425.0 ± 58.9	455.0 ± 157.2	
Nephrotic Syndrome (4)	334.5 ± 62.0	356.8 ± 49.8	346.5 ± 20.2	433.5 ± 78.8	404.5 ± 89.7	531.0 ± 168.5	654.5 ± 140.9	

問目  $455.0 \pm 157.2 \mu\text{Eq}/\ell$  と変動が少い。しかしこれら 2 群の個々のばらつきはかなり大きい。この点ネフローゼ症候群では負荷前値は平均  $334.5 \pm 62.0 \mu\text{Eq}/\ell$  と比較的ばらつきが少く、同時に前述 2 群の FFA 値に比較するとやや低値を示す。バター負荷後における変動は 3 時間目平均  $404.5 \mu\text{Eq}/\ell$ , 6 時間目平均  $654.5 \mu\text{Eq}/\ell$  と対照群に比較すると各時間における増加の程度は一般に低値であるが、肝硬変群よりは高値を示した。

### 3. バター負荷後の血清蛋白質の変動

#### a) 血清総蛋白濃度

Table 4 に示すごとく、対照群の血清総蛋白濃度はバター負荷後わずかに一過性に増加するが、いずれの時点においても有意差は認められない。しかし肝硬変症群では負荷後明らかに増加を認め、負荷後 3 時間目においては前値との間に有意差 ( $p < 0.05$ ) を示した。この点ネフローゼ症候群では負荷後の増加傾向は認められるが、各時点において負荷前値との間に有意差を見出すことは出来なかった。いずれにしても対照群においてはバター負荷の影響は比較的少ないが、肝硬変症・ネフローゼ症候群での影響は顕著にみられた。

**Table 4** *Changes of Serum Protein Concentration (g/100 mℓ) After Butter Administration (1 g/kg B. W., P. O.)*

Subj. (no)	Time (hr.)							
	0	0.5	1	2	3	4	6	8
Normal (4)	7.30 ± 0.16	7.53 ± 0.22	7.40 ± 0.14	7.28 ± 0.08	7.20 ± 0.12	7.25 ± 0.15	7.30 ± 0.25	7.20 ± 0.07
Cirrhosis of the Liver (4)	6.43 ± 0.33	6.78 ± 0.63	6.90 ± 0.64	6.78 ± 0.32	6.83* ± 0.24	6.53 ± 0.32	6.73 ± 0.40	
Nephrotic Syndrome (4)	5.38 ± 0.55	5.78 ± 0.73	6.08 ± 0.65	5.90 ± 0.29	5.78 ± 0.46	5.88 ± 0.47	5.95 ± 0.73	

\*  $p < 0.05$ 

#### b) 血清 Alb 濃度

この場合の Alb については Table 5(a) のごとく、対照群のバター負荷前 Alb は平均  $4.66 \text{ g}/100 \text{ mℓ}$  であるが、

負荷 30 分後には  $5.10 \text{ g}/100 \text{ mℓ}$ , 1 時間後には  $4.97 \text{ g}/100 \text{ mℓ}$  と、各時点を通じて有意の増加 ( $p < 0.05$ ) がみられた。

一方肝硬変症群では前値  $3.38 \pm 0.17 \text{ g}/100 \text{ mℓ}$  に対して負

**Table 5(a)** *Changes of Serum Albumin Concentration (g/100 ml)  
After Butter Administration (1 g/kg B. W., P. O.)*

Subj. (no)		Time (hr.)							
		0	0.5	1	2	3	4	6	8
Normal	(4)	4.66 ± 0.28	5.10* ± 0.15	4.97* ± 0.29	4.73 ± 0.20	4.73 ± 0.20	4.74 ± 0.11	4.72 ± 0.14	4.84 ± 0.18
Cirrhosis of the Liver	(4)	3.38 ± 0.17	3.68 ± 0.25	3.64 ± 0.38	3.53 ± 0.43	3.78* ± 0.27	3.48 ± 0.27	3.63 ± 0.29	
Nephrotic Syndrome	(4)	3.23 ± 0.57	3.33 ± 0.69	3.56* ± 0.56	3.57* ± 0.46	3.35 ± 0.19	3.45 ± 0.54	3.59 ± 0.54	

\*  $p < 0.05$

**Table 5(b)** *Changes of Serum Globulin-Fractions (g/100 ml) After  
Butter Administration (1 g/kg B. W., P. O.)*

Subj. (no)		Time (hr.)						
		0	0.5	1	2	3	4	6
Normal (4)	$\alpha_1$	0.26 ± 0.05	0.25 ± 0.07	0.24 ± 0.08	0.28 ± 0.04	0.21 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.23 ± 0.07
	$\alpha_2$	0.56 ± 0.08	0.52 ± 0.07	0.51 ± 0.05	0.56 ± 0.10	0.54 ± 0.06	0.53 ± 0.69	0.58 ± 0.06
	$\beta$	0.78 ± 0.09	0.68 ± 0.07	0.68 ± 0.08	0.71 ± 0.09	0.70 ± 0.11	0.71 ± 0.11	0.68 ± 0.06
	$\gamma$	1.06 ± 0.24	0.98 ± 0.18	1.00 ± 0.21	1.01 ± 0.19	1.02 ± 0.21	1.00 ± 0.21	1.05 ± 0.40
Cirrhosis of the Liver (4)	$\alpha_1$	0.16 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.15 ± 0.03	0.18 ± 0.06	0.14 ± 0.05
	$\alpha_2$	0.44 ± 0.08	0.40 ± 0.07	0.35 ± 0.10	0.44 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.42 ± 0.06	0.42 ± 0.06
	$\beta$	0.58 ± 0.10	0.53 ± 0.07	0.54 ± 0.12	0.54 ± 0.04	0.54 ± 0.09	0.52 ± 0.11	0.54 ± 0.13
	$\gamma$	1.87 ± 0.38	2.07 ± 0.57	2.24 ± 0.58	2.15 ± 0.54	2.10 ± 0.40	1.93 ± 0.50	2.00 ± 0.49
Nephrotic Syndrome (4)	$\alpha_1$	0.25 ± 0.08	0.32 ± 0.08	0.30 ± 0.08	0.26 ± 0.08	0.26 ± 0.08	0.28 ± 0.09	0.24 ± 0.03
	$\alpha_2$	0.99 ± 0.25	1.03 ± 0.25	1.15 ± 0.39	1.08 ± 0.33	1.12 ± 0.36	1.06 ± 0.37	1.08 ± 0.36
	$\beta$	0.59 ± 0.14	0.70 ± 0.14	0.69 ± 0.13	0.62 ± 0.19	0.66 ± 0.13	0.66 ± 0.10	0.65 ± 0.17
	$\gamma$	0.33 ± 0.17	0.40 ± 0.12	0.39 ± 0.16	0.37 ± 0.18	0.39 ± 0.21	0.43 ± 0.10	0.40 ± 0.12

荷 30 分後には  $3.68 \pm 0.25$  g/100 ml を示し、それ以後においても増加傾向がみられ、とくに負荷後 3 時間目には  $3.78 \pm 0.27$  g/100 ml と有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた。またネフローゼ症候群においては前値 3.23 g/100 ml に対して 1 時間目 3.56 g/100 ml, 2 時間目 3.57 g/100 ml, 6 時間目には 3.59 g/100 ml を示し、それぞれの増加は有意と判定された ( $p < 0.05$ )。つまりバター負荷によって対照群では総蛋白濃度の上においては有意差をみるまでにいたらなかったが、Alb としては明らかに一時的な増加がみられ、この点肝硬変症においては総蛋白濃度の上に有意の増加が認められると同時に、Alb にも負荷後の有意な増加を認め得た。ネフローゼ症候群では総蛋白濃度の上には有意の増加を認めなかったが、Alb には負荷後の増加が見出された。

#### c) 血清 glob 分画濃度

Table 5(b) に示すごとく、参考までにバター負荷前後

の glob 分画の変化をみたが、負荷前値については、肝硬変症群では対照群に比較して  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  および  $\beta$ -glob 分画が低値を示すと同時に  $\gamma$ -glob が高値を示す。一方ネフローゼ症候群においては  $\gamma$ -glob はむしろ低値を示し、同時に  $\alpha_2$ -glob 分画が高値を示す。対照群、肝硬変症群およびネフローゼ症候群のそれぞれについて、バター負荷後における各 glob 分画の変動をみたが、負荷前値に比較して有意な差異を示す分画は見出されなかった。

#### C. 小 括

以上の臨床知見によると、低 Alb 血症を呈する代表例として選んだ肝硬変症群・ネフローゼ症候群での  $^{131}\text{I}$ -triiolein 試験による脂肪の吸収能は、対照群に比較して肝硬変症群ではむしろ低下し、ネフローゼ症候群では上昇の傾向にあると言える。

またバター負荷試験による TG ならびに FFA の変動

と血清蛋白質、とくに Alb の変動についてみると、対照群の TG は3時間目に最高となり6時間目には旧に復する。この点肝硬変症群での増加傾向はきわめて軽度であるが、一度増加したレベルの復旧には時間を要する。一方ネフローゼ症候群は前値から明らかに高値を示すが、負荷後の増加はより著明で同時にその前値への回復には時間を要する。

FFA については、対照群ではバター負荷後に一時的な減少を示すと共に、TG よりも増加の傾向は遅れ、6, 8時間後に高値を呈する。肝硬変症群での FFA はほとんど変動を示さない。しかしネフローゼ症候群では前値はかなり低い、負荷後には明らかな増加反応がみられた。

これと共に血清蛋白をみると対照群での総蛋白質濃度の上での変動は少いが、Alb の増加が著明にみられる。肝硬変症群でも総蛋白質は明らかに増加し、その主体は Alb と考えられる。この点ネフローゼ症候群においても Alb を主とする蛋白質の増加がみられた。

### 実験的研究

以上の臨床知見をさらに動物実験に訴えて詳細に検討すべく以下の研究を進めた。

#### A. 方法

##### 1. 肝硬変ならびにネフローゼラットの作製

###### a) 肝硬変ラット

ウィスター系ラット (100~150 g, ♀) に 50% (v/v) オリーブ油-CCl<sub>4</sub> 溶液を体重 100 g 当り 0.2 ml ずつ、平均 150 日間にわたり 40 回筋注し、この間感染防止の目的にはペニシリンを投与した。実験に供した 16 匹のラットはすべて病理組織学的に Fig. 1(a) のごとく肝硬変を確認し得た。

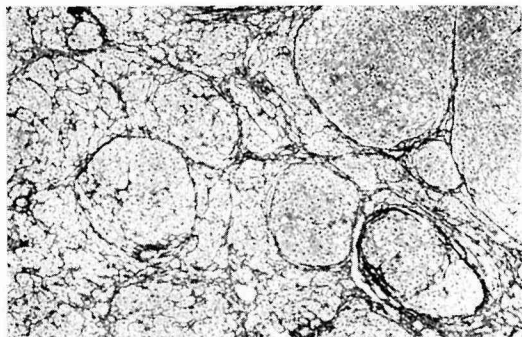


Fig. 1(a) Histological findings of the liver of rat after administration of CCl<sub>4</sub>. (300×, Reticulin stain)

###### b) ネフローゼラット

Nicholls<sup>10)</sup> に従い、Puromycin·aminonucleoside (P.

D. No. 130, Sigma Co.) の 5 mg/ml 水溶液を上記同様のラットに体重 100 g 当り 1.5 mg の割合で皮下注射したが、はじめの 1 週間は連日、その後 3 週間は 2~3 日に 1 回、さらにその後はラットの状態を観察しながら週 1~2 回の割合で注射した。ラットが乏尿と浮腫傾向、腹水貯留を来し、尿蛋白 1 g/100 ml 以上を呈した段階で以下の実験に使用した。なおこれらの腎の病理組織学的所見は Fig. 1(b) のごとく全例が基底膜の肥厚、糸球体の PAS 陽性物質の沈着および半月形成を示してネフローゼに該当する変化であることを確め得た。

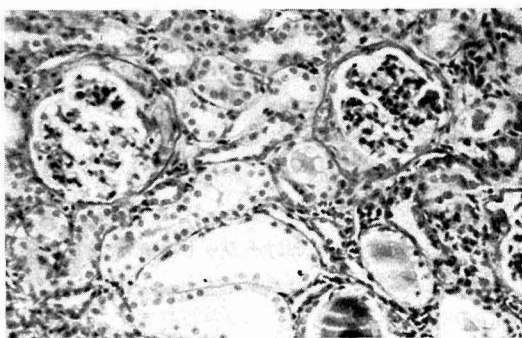


Fig. 1(b) Histological findings of the kidney of rat after administration of puromycin-aminonucleoside. (150×, PAS-hematoxylin stain)

##### 2. 血清脂質および蛋白質の測定

###### a) 血清 TG, FFA ならびに総蛋白質濃度の測定

それぞれ臨床実験の場合と同じ方法で行った。

###### b) 血清 Alb 濃度

その分画には Microzone 電気泳動法を用いたがセルロース膜 (Beckman millipore filter) を使用してバルビタール緩衝液 (pH 8.6,  $\mu=0.075$ ) で 250 V, 20 分間血清を泳動し、Alb 分画比と血清総蛋白質濃度から Alb 濃度を算出した。また Laurell 法<sup>11)</sup> を応用する免疫化学的測定法を加えたが、1 mM 乳酸カルシウム加バルビタール緩衝液 (pH 8.6,  $\mu=0.05$ ) を用いて平板上に電気泳動を施した。すなわち抗ラット Alb 血清を 1.2% アガロースに 3% の割合に溶解し、その 5 ml を 5×7.5 cm のガラス平板に盛り、一端に直径 2 mm の小孔を 6 個あけて 50 倍稀釈血清をそれぞれに正確に 5  $\mu$ l ずつ注入し、1.6 mA/cm, 4°C で 24 時間電気泳動を行い、沈降線の高さによって血清 Alb 濃度を比較した。この場合抗ラット Alb 血清をラット血清 Cohn Fr. V (No. 6078 Nutritional Biochemical Co.) を Freund's complete adjuvant と共に家兎に foot pad 法で注射して作製し、 $\gamma$ -glob を塩析法と DEAE cellulose column chromatography によって分画作製した。

### 3. バター負荷試験

正常対照群、肝硬変群およびネフローゼ群それぞれのラットをさらに4群ずつに分け、バター負荷前、負荷後1時間、2時間および3時間においてそれぞれから採血して用供した。またバター負荷試験と同時に後述する循環臓器内 Alb 量の測定のために  $^{131}\text{I}$ -RISA (Dainabot Lab.) の静脈内注入を行った。すなわち、Lugol 液で前処置したラット各群を48時間水のみで飼育し、加温して液状としたバターを(臨床実験に使用せるものと同じ)体重 kg 当り 5 g 小チューブを通して経口時に注入投与した。これらの各群についてその採血予定時間の5分前にエーテル麻酔下に  $^{131}\text{I}$ -RISA 10  $\mu\text{C}$  を頸静脈から注入し、開腹して腹部大動脈から全採血し、その1 ml を EDTA ナトリウム塩で処理した試験管にとり放射活性およびヘマトクリット値(Ht)を測定した。他の血液の処理はすべて低温下(4°C)処理したが、得られた血清について脂質その他の分析に供した。

### 4. バター負荷前後におけるラット血清 Alb 結合 FFA の測定

前項の実験結果によって、バター負荷後の血清試料は2時間目に一定してこれを用い、負荷前血清と共に以下の測定を施した。

#### a) 抗ラット Alb 家兎 $\gamma$ -glob を用いた血清 Alb 沈降複合物の分離

バター負荷前ならびに後2時間目のラット血清 0.1 ml を用いて、これと抗ラット Alb 家兎  $\gamma$ -glob との間に沈降反応を行なわせその複合物を得た。すなわち、あらかじめ最適比を求め、それよりもわずかに上まわる抗体量を用いたが、対照ラットおよび肝硬変ラット血清 0.1 ml についてはその1 ml ( $\gamma$ -glob として 34.2 mg)、またネフローゼラット血清 0.1 ml についてはその0.5 ml ( $\gamma$ -glob として 17.1 mg) がこれに相当した。それぞれ該当量の血清と抗ラット Alb 家兎  $\gamma$ -glob をまぜ、4°C 下に4時間放置して沈降反応を営ませた。これを遠沈して(3,500 rpm, 10 分間)上清を除き、沈降物を生理食塩水 1 ml で3度洗滌した。なおこの上清部分については Mancini 法<sup>12)</sup>によって Alb を含まないことを確認した。この沈降物はそのまま試験管内で凍結乾燥し、試験管の重量を差し引いて抗原・抗体複合物としての量を求めた。

#### b) Alb 抗体複合物中の FFA 測定

凍結乾燥した上記沈降物にクロロホルム-メタノール(2:1 v/v) 3 ml を加え、沈降物を混和して3時間室温に放置。その後濾過して(東洋濾紙 No. 6)同様の抽出溶媒 2 ml で洗滌した。一度溶媒をとばした上で再度クロロホルム-ヘプタン(1:1 v/v)で抽出し、Laurell-TAC<sup>8)</sup>に従って FFA

を定量した。なお各検体について沈降反応の際に除いた上清、洗滌に用いた生理的食塩水、および抗体  $\gamma$ -glob 中の FFA も測定した。

### 5. 血清蛋白分画中の FFA の分布

各ラット群についてバター負荷後2時間目の血清を殿粉電気泳動法により分画したが、泳動条件は 0.05 M バルビタール緩衝液(pH 8.2)を使用し、4°C、2.5 mA/cm<sup>2</sup>、18 時間泳動によった。これを1 cm 間隔に切り出し、それぞれを生理的食塩水 2.5 ml で2回抽出して濾過し、その上清について 280 m $\mu$  における吸光度を測定してパターンを得た。次いで各上清を visking tube 中で脱イオン水に対して透析し、さらに4°Cで大体0.5 ml まで濃縮して小試験管内で凍結乾燥した。これを0.2 ml の生理食塩水に溶かし、それぞれの6  $\mu\text{l}$  をとって Mancini 法<sup>12)</sup>により免疫化学的に Alb の分布を求め、残りの検体については Laurell-TAC 法<sup>8)</sup>によって FFA を測定した。

### 6. 臓器 Alb 量の測定

Kunkel ら<sup>13)</sup>の方法に従いバター負荷前および負荷後の諸臓器に含まれる Alb 量を測定した。すなわち、第3項の実験に関連して各群のラットを全採血後肝、消化管(内容を洗滌)および腎のそれぞれについて、濾紙(東洋 No. 6)で可能なかぎり水分を除いた。組織 1 g 当り 5 ml の 0.2% デオキシコール酸ナトリウムおよび 0.15 M NaCl を含む 0.01 M リン酸緩衝液で磨砕し、4°C、11,000 g、30 分間遠沈した。その上清 1 ml について放射活性を測定し、他の上清部分については Mancini 法<sup>12)</sup>による臓器 Alb 量の免疫化学的測定を施した。すなわち、0.05 M バルビタール塩酸緩衝液(pH 8.2)を用いて 1% アガロースゲルをつくり、前述の抗ラット Alb 家兎  $\gamma$ -glob を 3% に加えたゲルをガラス平板に盛って直径 2 mm の穴をあけ、これに各試料と既知濃度の Alb 溶液をそれぞれ 5  $\mu\text{l}$  ずつ注入し、48時間室温に放置して生じた沈降輪の面積から各臓器湿重量 1 g 当りの Alb 量を推算した。この中にはむしろ臓器内循環 Alb 量も含まれるからこれを次の測定式\*によって算出し Mancini 法<sup>12)</sup>により測定した臓器 Alb 量から引いて算出する方法をとった。

$$\text{* 臓器内循環 Alb 量 (mg/g w.w)} = \frac{\text{血清 Alb 濃度 (mg/ml)} \times \text{組織 1 g 中の放射活性 (cpm)} \times (1 - \text{Ht}) / \text{血液 1 ml 中の放射活性 (cpm)}}{1}$$

## B. 成績

### 1. 正常対照、肝硬変ならびにネフローゼラット群におけるバター負荷後の血清 TG ならびに FFA 量の変動

#### a) 血清 TG について

Table 6 にみるごとくほぼ同一条件下の各群のラットを



**Table 6** *Changes of Rat Triglyceride Levels (mg/100 ml) After Butter Administration (5 g/kg B. W., P. O.)*

Group (no)	Time (hr.)			
	0	1	2	3
Normal (4)	44.0 ± 12.6	52.7 ± 6.9	98.0 ± 30.5	91.5 ± 21.4
Cirrhotic (4)	52.5 ± 14.7	54.0 ± 10.3	65.5 ± 10.1	50.3 ± 4.6
Nephrotic (2)	109.0 ± 10.0	351.0 ± 191.0	520.0 ± 110.0	320.0 ± 49.5

多数に用意することは困難であったが、対照群における負荷前値は平均 44.0 ± 12.6 mg/100 ml を示し、これにバター負荷を施すと 2 時間後において平均 98.0 ± 30.5 mg/100 ml に増加し、3 時間後においてもやや減少傾向を示すが、なお 91.5 ± 22.4 mg/100 ml であった。この点肝硬変群の前値平均は 52.5 ± 4.7 mg/100 ml であるが、バター負荷後の増加はほとんどみられない、一方ネフローゼ群の平均値は 109.0 ± 10.0 mg/100 ml と明らかに高値を示し、1 負荷時間後には 351 mg/100 ml と増加し、さらに 2 時間後には 520 mg/100 ml に達する。3 時間後にはやや減少の傾向がみられるが、なお 320.0 ± 49.5 mg/100 ml と高値を示した。

#### b) 血清 FFA について

Table 7 のごとく対照群の前値平均は 673.3 ± 100.8  $\mu$ Eq/l であるが負荷後 1 時間目には 1,326.7  $\mu$ Eq/l と増加し、さらに 2 時間後には平均 2,050  $\mu$ Eq/l と最高値を示し、3 時間後にはほぼ負荷前値まで低下する。この点肝硬変群における血清 FFA は負荷前平均 532.8 ± 175.4  $\mu$ Eq/l と対照よりも低いが、負荷後においてはほぼそれに匹敵する増加を示し、3 時間後においてもなお比較的高値を示した。一方ネフローゼ群においては負荷前平均は 107.5 ± 33.5  $\mu$ Eq/l と極めて低値を示したが、負荷 2 時間後の最高平均値においても 397.5 ± 62.5  $\mu$ Eq/l 程度の増加を示すにすぎなかった。

**Table 7** *Changes of Rat Serum FFA Levels ( $\mu$ Eq/l) After Butter Administration (5 g/kg B. W., P. O.)*

Group (no)	Time (hr.)			
	0	1	2	3
Normal (4)	673.3 ± 100.8	1,326.7 ± 186.9	2,050.0 ± 735.4	833.8 ± 112.4
Cirrhotic (4)	533.8 ± 175.4	1,267.5 ± 252.3	1,382.5 ± 149.6	1,226.3 ± 142.6
Nephrotic (4)	107.5 ± 33.5	165.0 ± 55.0	397.5 ± 62.5	335.0 ± 130.0

## 2. 各ラット群におけるバター負荷後の血清蛋白質の変動

### a) 血清総蛋白濃度

Table 8 のごとく各群の平均値についてみると、対照群では負荷後 1 および 2 時間後には前値の 6.23 ± 0.40 g/100 ml からそれぞれ 7.03 ± 0.33 および 7.13 ± 0.40 g/100 ml と増加傾向を示す。しかし 3 時間後には再び前値と同程度に

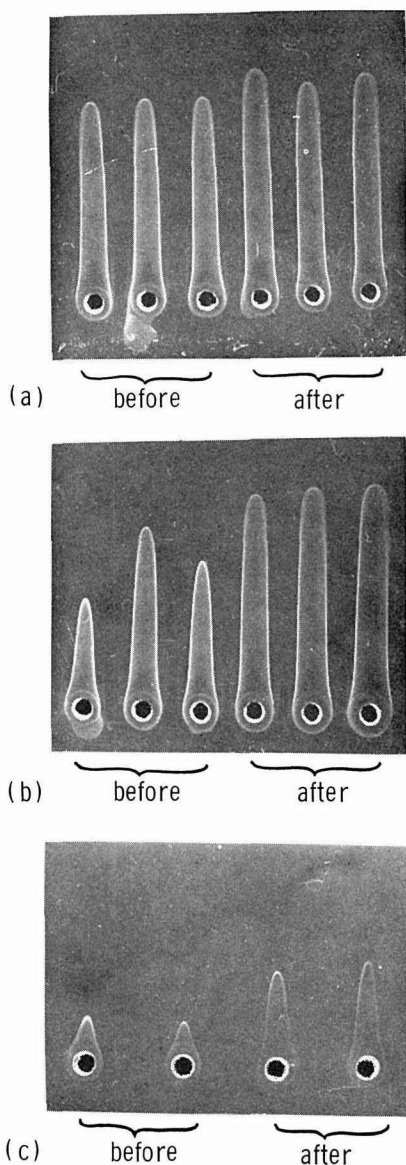
減少した。この点肝硬変群においては負荷前の平均は対照群とはほぼ同程度であるが、負荷後の変動は極めて少ない。ネフローゼ群では負荷前はばらつきが大きい平均 5.85 ± 1.15 g/100 ml と低い。しかしバター負荷 1 時間後には平均 8.05 ± 0.05 g/100 ml に増加し、2 時間後には 7.45 ± 0.05 g/100 ml、3 時間後には 6.65 ± 0.65 g/100 ml と増加の傾向を保った。

**Table 8** *Changes of Rat Serum Protein Concentration (g/100 ml) After Butter Administration (5 g/kg B. W., P. O.)*

Group (no)	Time (hr.)			
	0	1	2	3
Normal (4)	6.23 ± 0.40	7.03 ± 0.33	7.13 ± 0.40	6.43 ± 0.29
Cirrhotic (4)	6.53 ± 0.43	6.30 ± 0.31	6.91 ± 0.22	6.98 ± 0.18
Nephrotic (4)	5.85 ± 1.15	8.05 ± 0.05	7.45 ± 0.05	6.65 ± 0.65

**Table 9** *Changes of Rat Serum Albumin in Concentration (g/100 ml)  
After Butter Administration (5 g/kg B. W., P. O.)*

Group (no)	Time (hr.)			
	0	1	2	3
Normal (4)	$3.44 \pm 0.29$	$3.74 \pm 0.26$	$3.87 \pm 0.34$	$3.63 \pm 0.22$
Cirrhotic (4)	$2.64 \pm 0.46$	$2.85 \pm 0.27$	$3.14 \pm 0.27$	$3.04 \pm 0.46$
Nephrotic (2)	$1.06 \pm 0.47$	$1.08 \pm 0.31$	$1.51 \pm 0.25$	$2.08 \pm 0.28$



**Fig. 2** Changes of rat serum albumin in levels on immunoelectrophoresis before and after (2 hours) butter administration (5 g/kg B. W., P. O.).

#### b) 血清 Alb 濃度

Table 9 のごとく対照群においては血清総蛋白濃度の増加につれて Alb 値の増加も大体一致してみられ、負荷前  $3.44 \pm 0.29$  g/100 ml に対して負荷後 1 および 2 時間後にはそれぞれ  $3.74 \pm 0.26$ ,  $3.87 \pm 0.34$  g/100 ml と増加傾向を示す。肝硬変群では負荷前  $2.64 \pm 0.46$  g/100 ml と対照群よりも明らかに低く、これにバター負荷を施すと 1 時間後  $2.85 \pm 0.27$ , 2 時間後  $3.14 \pm 0.27$ , 3 時間後  $3.04 \pm 0.46$  g/100 ml と増加傾向が認められた。一方ネフローゼ群の血清 Alb 濃度は負荷前平均は  $1.06 \pm 0.47$  g/100 ml と著明に低く、バター負荷を施すと 2 時間目平均  $1.51 \pm 0.25$  g/100 ml, 3 時間目  $2.08 \pm 0.28$  g/100 ml 程度の増加が、前 2 群よりも遅れてみられた。

これらの点を Laurell 法を応用して免疫化学的方法を用いて観察すると、Fig. 2 のごとく対照群 (a) では負荷後 2 時間目軽度の増加を示すが、肝硬変群 (b) には前値の減少がみられ、この減少はバター負荷後には大体対照群程度に著明に増加する。一方ネフローゼ群 (c) は、前値において著明な低下を示すが、バター負荷後の増加についても対照レベルまでには達しない。

#### 3. バター負荷後における組織 Alb 濃度

以上のごとくバター負荷後に血清蛋白とくに Alb 濃度の増加を認めたが、その増加する Alb の由来とも関連して各ラット群の肝、消化管および腎における組織 Alb 濃度を測定した。

Table 10 のごとく、まず負荷前値についてみると対照および肝硬変ラットに比較して、ネフローゼラットの各組織内 Alb 濃度が著明に低値を示すことが注目された。

バター負荷後の変化をみると、対照ラットの肝では負荷後 1 時間目に一過性の減少を認め、消化管では負荷後 3 時間目が最も低値を示して肝よりもその減少が遅れて生ずる。腎では負荷後 1 時間目に一過性に減少を認めた。一方肝硬変ラットの肝 Alb はバター負荷後次第に減少の傾向を示し、消化管での変化は少ないが腎においては負荷後 2 時間目に一過性の減少がみられた。この点ネフローゼラットにおいては負荷後の肝および消化管の Alb 濃度には著明な変化を認めないが、腎において負荷後 3 時間目の Alb



**Table 10** *Changes of Rat Tissue Albumin Concentration (mg/g W. W.)  
After Butter Administration (5 g/kg B. W., P. O.)*

Group (no)		Time (hr.)			
		0	1	2	3
Normal (4)	Liver	2.34 ± 0.16	1.62 ± 0.30	2.03 ± 0.43	2.39 ± 0.78
	Gastrointestine	0.86 ± 0.16	0.73 ± 0.44	0.78 ± 0.34	0.60 ± 0.07
	Kidney	0.71 ± 0.36	0.42 ± 0.19	0.56 ± 0.12	0.58 ± 0.14
Cirrhotic (4)	Liver	0.89 ± 0.28	1.91 ± 0.44	1.71 ± 0.36	1.40 ± 0.41
	Gastrointestine	0.72 ± 0.27	0.71 ± 0.31	0.97 ± 0.28	0.90 ± 0.11
	Kidney	0.95 ± 0.22	0.72 ± 0.13	0.54 ± 0.19	0.81 ± 0.40
Nephrotic (4)	Liver	1.03 ± 0.05	1.10 ± 0.17	1.28 ± 0.07	1.16 ± 0.17
	Gastrointestine	0.40 ± 0.07	0.44 ± 0.01	0.56 ± 0.01	0.43 ± 0.07
	Kidney	0.23 ± 0.04	0.23 ± 0.07	0.28 ± 0.04	1.05 ± 0.01

濃度に増加がみられた。

これらの増減についてはしかし、推計学的な有意差を明らかにすることは出来なかった。

#### 4. 各ラット群における Alb 結合 FFA

Table 11 にみるごとく、沈降反応による Alb 抗原と

抗体の複合物量は、バター負荷前値に関する限り大体各ラット群の Alb 濃度と比例し対照・肝硬変・ネフローゼ群の順を示すがバター負荷後2時間のそれぞれは289.0, 414.0, および172.1 g/100 ml と肝硬変ラットが最も高かった。

**Table 11.** *Comparison of Albumin-Anti-Alb. Antibody Complex and FFA  
in Its Complex Before and 2 hrs After Butter Administration*

Group*	Bef. and Aft. Butter Admin.	Ag-Ab Complex (g/100 ml)	FFA in Ag-Ab Complex ( $\mu$ Eq/l)	FFA in the Complex ( $\mu$ Eq/g)	FFA in the Supernate. ( $\mu$ Eq/l)
Normal	Bef.	279.0	505.5	0.181	0
	Aft.	289.0	1,203.0	0.426	0
Cirrhotic	Bef.	244.7	195.0	0.080	0
	Aft.	414.0	875.0	0.211	0
Nephrotic	Bef.	52.6	75.0	0.143	0
	Aft.	172.1	465.0	0.270	250

\* Pooled sera from rats of each group were subjected for the determination

本実験の目的はこの沈降物内の FFA 量を検討することにあるが、注目すべき結果として対照ラットでは負荷後の沈降物の量的変化はむしろ極めて少いが、FFA 量の増加は著しくて前値 505  $\mu$ Eq/l に対して 1,230  $\mu$ Eq/l とほぼ2.4 倍の増加を示した。この点肝硬変ラットでは沈降物量としてはバター負荷後には前値のほぼ1.7 倍に増加するが、その中の FFA 量は前値が195  $\mu$ Eq/l と低いためバター負荷後には4.6 倍に増加しても875  $\mu$ Eq/l になった。さらにネフローゼラットの負荷前沈降物は52.6 g/100 ml と低く、負荷後にも172.1 g/100 ml の増加に止まったが、その場合

の FFA 量については前値が75  $\mu$ Eq/l と低く、バター負荷後には465  $\mu$ Eq/l までの増加を示した。これを沈降物1 g 当りに含まれる FFA 量としてみると、対照ラットについては前値0.181  $\mu$ Eq, 負荷後値0.426  $\mu$ Eq に対して、肝硬変ラットはそれぞれ0.080, 0.211  $\mu$ Eq, ネフローゼラットは0.143, 0.270  $\mu$ Eq を示し、肝硬変およびネフローゼラットの場合は負荷前後を通して対照ラットよりも明らかに低値を示した。なお血清 Alb 抗体沈降物を除いた上清について検討すると、ネフローゼラットのバター負荷後の場合にのみこの上清に FFA が測定されたが、Alb 減少

のためにこのバター負荷条件下では、Alb が十分に FFA 結合を営めないことを示すものであろう。

### 5. 各ラット群におけるバター負荷後の血清蛋白分画内 FFA 分布

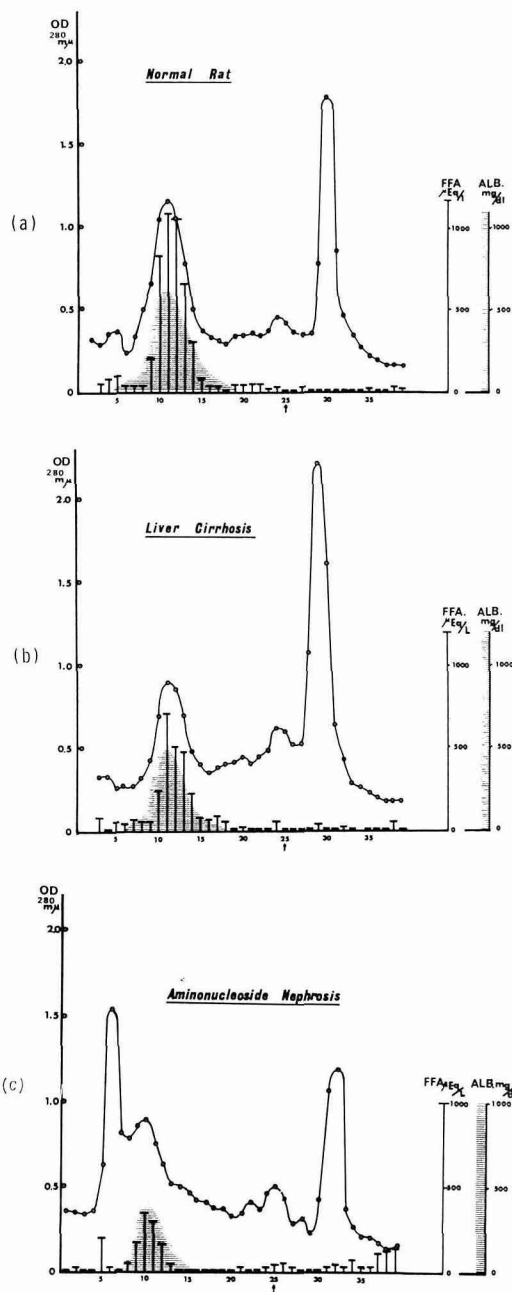


Fig. 3 Schema of the distribution of albumin and FFA on starch gel electrophoresis of serum group of rats 2 hrs after butter administration.

前項の成績に関連して、各ラット群についてバター負荷後に増加した血清 FFA と Alb とがどのような関係にあるかをくらべるため、バター負荷後2時間目の血清蛋白の電気泳動分画の FFA を測定してみると、Fig. 3 に示す特徴を見出せる。すなわち対照群(a)においては Alb の分布と FFA の分布は極めてよく一致して見出され、全 FFA 量の 90.8% は Alb 領域に測定されるが、肝硬変群(b)では Alb, FFA 量はそれぞれ対照よりも低いなりに大体両者の分布がよく一致し、FFA 量の 88.8% までが Alb 領域に見出された。しかしネフローゼ群(c)は Alb も FFA も共に低値であるが、Alb 領域の FFA は 53.3% に止まり pre-Alb および post- $\gamma$ -glob 領域にわたっても FFA は比較的広く見出される。この現象は、前項で Alb・抗 Alb 沈降物以外の上清も多量の FFA を検出し得た結果に一致する。

### 総括ならびに考按

血清蛋白質各分画の異常を呈する dysproteinemia 状態のうち、とくに低アルブミン血症時の血中脂質の在り方を明らかにすべく研究を意図した。

すなわち、Hypoalbuminemia を伴う代表的疾患として肝硬変症およびネフローゼ症候群を選び、脂肪吸収能と血中遊離脂肪酸の変動を検討したが、その結果 Triolein 試験の上では肝硬変症において吸収低下がみられ、ネフローゼ症候群では正常対照との間に差異は見出されなかった。

肝硬変症を脂質代謝面からみると一般に血清脂質量の上では変化は少いが、その吸収能は低下しているとされ、Berkowitz<sup>14)</sup> は  $^{131}\text{I}$ -triolein による脂肪吸収能の低下を報告している。今回の結果も正常対照群に比較して肝硬変群は  $^{131}\text{I}$ -triolein の血中導入率の低下を示してこれに一致した。一方ネフローゼ症候群での脂肪吸収能については、その高脂質血症にもかかわらずなお十分には明らかにされていない。しかし今回の Triolein 試験に関するかぎり脂肪吸収能には異常を認めない。肝硬変症は一般に門脈圧亢進状態を伴いがちな点からも腸管吸収上に障害が予測され、同時に肝における諸種の代謝異常や、特に血清蛋白質の合成障害によって血中諸成分の変化を伴いやすいとされている。Triolein 試験の上に見出されるその機能低下にも当然それらの影響を考慮すべきであろう。野間<sup>15)</sup> は加齢に伴う Triolein 試験上の機能低下をみてこれを脾機能障害との関係について推論したが、今回の対象についてこれらの肝硬変症病態がどの程度まで脾機能の変化を示したかはむろん明らかでない。すでに肝硬変症には胆汁酸<sup>16)</sup> および脾外分泌機能<sup>17)</sup> の低下を認めることが報告され、また門脈圧亢進のために腸リンパの灌流障害がもたらされて二次

的に腸粘膜での脂肪吸収障害<sup>18)</sup>を生ずることも知られている。腸管そのものの変化としては、Astald<sup>19)</sup> および Baraona<sup>20)</sup> によると空腸の生検上組織学的変化の存在することが報告されている。

これら知見を出発点としてバター負荷を施した後の血清成分の変動を検討した。まず血清 TG 値の経時的変動をみると、本条件下における正常対照群の変化は負荷3時間後に最高値に達して以後漸減し、6時間後には前値に復するが、肝硬変症患者においては負荷後の血清 TG 値の上昇は極めて少く、この点にも脂肪吸収の障害が推測された。一方ネフローゼ症候群患者においては、本来存在する高脂質血症のため負荷前の血清 TG 値はすでに著明に高値を示しているが、負荷後においてもなお著しく増加を示し、そのことからみて脂肪の吸収には変化がみられないものと考えられた。しかしバター負荷後に増加した血清 TG の経時的消長をみると、正常対照では負荷前値に復する6時間後においてもなお高値を保ち、対照に比較して外因性脂肪の処理能の低下がうかがわれた。この変化はネフローゼ症候群では特に著しいが、肝硬変症の場合にもそのレベルは低くても負荷前値への復帰は遅延する。

これを血清 FFA 値の変動からみると正常対照では負荷後短時間内に一過性にその減少を生ずる。この現象は、腸粘膜において脂肪吸収が開始されると末梢脂肪組織からの FFA の放出が抑制され、そのために一時的に血中 FFA の減少を招くものと解される。ところで一度低下した血清 FFA 値はその後負荷前値を越えて増加を示すにいたるが、この点は吸収された脂肪、すなわち chylomicron が速やかに水解されて、そこから放出される脂肪酸が血清 FFA 値としてとらえられるためとみてよからう。肝硬変症では同様にバター負荷後一時的に血清 FFA 値の減少傾向が認められるが、その後の増加は極めて少かった。これは脂肪吸収能の低下によって水解される chylomicron が少く、血清 FFA 値の増加がもたらされないためと考えられる。一方ネフローゼ症候群では負荷前後を通じて FFA は正常対照よりも低値であるが肝硬変症よりは高く、肝硬変症ほどではないにしても脂肪処理能の低下がうかがわれる。

さてこれらの臨床的知見を裏づけるべく、ラットを用いて動物実験上バター負荷前後の血清 TG および血清 FFA 値の変動を検討した。

すなわち、対照ラットはバター負荷後2時間目に血清 TG が最高値に達し、また血清 FFA 値は1時間後においてすでに増加がみられ、その最高値は2時間後にみられる。臨床成績よりも明らかにその増加が早い点が注目される。つまりラットでは外因性脂肪が比較的速やかに流血中で水解されることを意味するものと考えられる。

一方肝硬変ラットでは負荷後の血清 TG の上昇がほとんど認められず、一見脂肪吸収が極めて障害されているようにみえる。しかしこれを血清 FFA 値に注目すると前値の 533.8  $\mu\text{Eq}/\ell$  に対して負荷1時間後には 1,267.5  $\mu\text{Eq}/\ell$  と著増し、外因性脂肪の水解によって血清 FFA 値が増加したとするならば、肝硬変ラットにおいては必ずしも高度の脂肪吸収障害はみられないと言えるかもしれない。これをネフローゼラットについてみると、血清 FFA 値は一般に低値を示し、バター負荷3時間後に血清 TG 値が極めて高い状態においても、血清 FFA 値はそれほど増加しない。このことは脂肪吸収には障害がない一方において、外因性脂肪の処理能力には低下がみられることを示唆するものであろう。これらは臨床的にネフローゼ症候群患者について得られた結果に一致するところである。

血清リポ蛋白の中で TG の輸送型と考えられる chylomicron と超低比重リポ蛋白 (VLDL) に関しては、その構造は今日なお十分に解明されていないが、両者の生成ならびに代謝機構については基本的には差異がない<sup>(21)</sup>ものとされている。流血中における両者の水解酵素としての lipoprotein-lipase (LPL) の活性は post heparin lipolytic activity (PHLA)<sup>22)</sup> として測定されるが、ネフローゼ症候群ではこの PHLA が低下することが報告<sup>23)</sup>されている。そのことが本症に特徴的な高脂質血症の成因とする<sup>24)</sup>には種々の高脂質血症の型別に吟味をすることもまた必要であらう。なお肝硬変症患者の PHLA は正常者よりも高い活性を示す<sup>25,26)</sup>との報告をみるが、今日なお十分に検討がなされたとは言えない。

末梢脂肪組織の TG はホルモン感性 lipase によって水解され、生ずる FFA は主として血清 Alb と結合して流血中を種々の組織細胞に運ばれるものとされるが、血清 Alb と FFA の結合には段階的な結合様式<sup>27,28)</sup>が考えられている。また血清 Alb に結合している FFA 量が増加して Alb 1分子に結合する FFA が4分子以上になると、脂肪組織での TG の水解は著明に抑制<sup>29,30)</sup>されることが知られ、さらにネフローゼ症候群患者においては Nor-adrenalin に対するホルモン感性 lipase 反応は低下しているが、静脈内へ Alb を補うとその反応性が回復する<sup>31)</sup>。ネフローゼ症候群の空腹時血清 FFA が低い原因としては、合併する低 Alb 血症のために Alb に結合する FFA 量の相対的増加がもたらされ、これがホルモン感性 lipase の活性低下につながり、結果的に脂肪組織からの FFA の動員を抑制するためと推測される。

そこでこれらの病態でバター負荷後の血清総蛋白濃度および血清 Alb 濃度の変動を観察すると、正常対照においては血清総蛋白濃度そのものには著明な変動を認めない

が、血清 Alb 濃度には有意な増加が認められ、一方肝硬変症およびネフローゼ症候群においては負荷後の血清総蛋白濃度ならびに血清 Alb 濃度共に、時間的な、あるいは量的な差異はあるにしても、明らかな増加を認めることが出来た。この点は動物実験においても、対照ラット、肝硬変ラットおよびネフローゼラットのそれぞれについて、バター負荷を施しても血清総蛋白質ならびに Alb 濃度の増加反応として裏づけることが出来た。さらにそれらの変動は Laurell 法<sup>12)</sup>を用いて展開することにより、観察を容易にすることが出来、また各ラット群のバター負荷前と負荷後 2 時間目における血清 Alb の特異抗体による沈降反応の比較によっても、負荷後に著明な増加を認めて、血清 Alb 濃度の増加を裏づけることが出来た。

さてバター負荷後にみる血清 Alb 濃度の増加機序とも関連して、各ラット群における組織 Alb 濃度に着目すると、対照および肝硬変ラットにおいては負荷後の血清 Alb 濃度の増加とは逆に肝における Alb 濃度の減少がみられた。この鏡像的な現象は血中に増加する Alb が主として肝より動員された可能性を示唆するものかもしれない。しかし消化管における Alb 濃度の動態は対照および肝硬変ラットで異なり、その意義を明らかにすることが出来なかったし、ネフローゼラットにおいては肝ならびに消化管の Alb 濃度の変動が少く、バター負荷後の血清 Alb 濃度の増加を説明しうる現象をとらえられなかった。さらにネフローゼラットで負荷後 3 時間目における腎 Alb 濃度の著増をみた点について推論すれば、増加した血清 Alb が尿中への Alb 排泄を増す過程において測定された可能性を否定出来ない。

ところで脂肪吸収時に流血中に出現する chylomicron や主として肝由来とされる VLDL の TG が LPL により水解され FFA を放出するが、この FFA が水解と同時に組織細胞にとり込まれるとは考え難い。バター負荷後の血清 FFA 値の増加をみてもこれらの FFA は当然 Alb と結合して流血中を輸送されるものと考えられる。同時にラット血清 Alb 抗体沈降物を除いた上清について FFA を検索すると、ネフローゼラットのバター負荷 2 時間後の血清のみについて FFA が測定可能であった。

当然 Alb の量的・質的変化の影響が考えられるから、さらに各ラットのバター負荷 2 時間後の血清を殿粉電気泳動法により分画して FFA の分布を検討すると、対照および肝硬変ラットにおいては血清 FFA の約 90% が Alb 領域に存在するが、ネフローゼラットの Alb 分画 FFA は 53% のみを測定するに過ぎなかった。

本実験で使用したネフローゼラットの血清 Alb 濃度の平均は、バター負荷前 1.06 g/100 mℓ、負荷後 2 時間目のそ

れは 1.51 g/100 mℓ であり、このような低 Alb 血症状態においては血清 FFA が Alb 以外のリポ蛋白に結合<sup>32)</sup>して流血中を輸送されるものと思われる。Rosenman<sup>33)</sup> らは、抗ラット腎家兔血清を用いて作成した実験的ネフローゼラットに Alb を静注して高脂質血症の改善をみたと報告しているが、血清 TG の水解機序には血清 Alb が関与することを示唆するものであろう。

著者らは臨床研究および動物実験においてバター負荷後に流血中の Alb 濃度が増加する知見を得たが、これは生体が流血中の外因性脂肪の処理を営むさいに、まず LPL によって TG の水解が行われ、放出される FFA の一時的な受容体とも言える血清 Alb の需要が高まり、これに答えるべく血清 Alb が流血中に増加するものと推測される。しかも肝硬変症およびネフローゼ症候群においては低 Alb 血症を呈し、本来 Alb の欠乏状態にあるにもかかわらず、バター負荷後に血清 Alb 濃度の増加が起こり得ることは、脂質代謝の側面に付して Dysproteinemia 病態の反応性の一面を示すものと考えられる。

## 結 論

血中外因性脂肪の処理時における血清 Alb の役割を明らかにすべく、臨床的ならびに実験的研究の結果以下の知見を得た。

1. 肝硬変症患者においては脂肪吸収能の低下を認め、ネフローゼ症候群患者においては脂肪吸収能は正常であるが、血中での外因性脂肪の処理能力に低下を推測させる結果を得た。

2. 正常対照者、肝硬変症およびネフローゼ症候群患者においては、バター負荷後に血清 Alb 濃度の上昇が認められた。

3. 四塩化炭素肝硬変ラットにおいても脂肪吸収能の低下が認められ、一方 aminonucleoside ネフローゼラットにおいては脂肪吸収能は正常と考えられるが、血中における外因性脂肪の処理能力の低下が推測された。

4. 正常対照ラットにおいてもバター負荷後の血清 Alb 濃度の増加を認めるが、低 Alb 血症を呈する肝硬変ラットおよびネフローゼラットにおいてはバター負荷後の血清 Alb 濃度の増加はより明らかであった。

5. 対照ラットおよび肝硬変ラットにおけるバター負荷後の血清 FFA はその 90% が血清 Alb と結合しているが、ネフローゼラットにおいてはバター負荷後の血清 FFA は約 50% が血清 Alb に結合しているに過ぎなかった。

6. 対照ラットおよび肝硬変ラットにおいては、バター負荷により増加する血清 Alb は主として肝より動員されることが示唆されたが、ネフローゼラットにおいてはその

現象を認めなかった。

7. 以上より血中外因性脂肪の加水により出現する遊離脂肪酸に対しても血清 Alb がその carrier として重要な役割をになうことを明らかにした。

本研究に際して種々御指導をいただいた大野公吉教授、安斎哲郎客員教授および谷内昭助教授、組織学的検索において御教示をいただいた藤本輝夫教授（現大阪市立大学医学部教授）および坂本真一博士に深謝します。なお本研究の一部は北海道老年医学研究振興会研究費による。

（昭和 50. 6. 4 受理）

## 文 献

- 1) Fredrickson, D. S. and Gordon, R. S. Jr.: Transport of fatty acids. *Physiol. Rev.* **38**, 585-630 (1958).
- 2) Angel, A. D. K. S. and Halperin, M. L.: Free fatty acid and ATP levels in adipocytes during lipolysis. *Metabolism* **20**, 87-99 (1971).
- 3) Nikkilä, E. A.: Transport of free fatty acids. *Progr. Biochem. Pharmacol.* **6**, 102-129 (1971).
- 4) Muir, J. R.: The regional production of lipoprotein lipase in man. *Clin. Sci.* **34**, 261-270 (1968).
- 5) Krauss, R. M., Windmueller, H. G., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S.: Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat post heparin plasma. *J. Lipid Res.* **14**, 286-295 (1973).
- 6) Williams, J. A. and Grable, E.: A semiautomatic instrument for measuring blood volume. *JAMA* **178**, 1097-1098 (1961).
- 7) 春日誠治: 血清トリグリセリドの定量について（主としてクロモトローブ酸法）。第 11 回老人病研究会発表 (1967)。
- 8) 前畑英介, 水口清美, 黒沢侑子: 2-(2-thiazolyl-azo)-p-cresol による血中遊離脂肪酸の定量。衛生検査 **21**, 369 (1972)。
- 9) 藤井暢三: 生化学実験法 (定量篇)。477, 南山堂, 東京 (1964)。
- 10) Nicholls, D. M.: Glycolysis in normal and nephrotic rat kidney. *Can. J. Biochem.* **43**, 1717-1722 (1965)。
- 11) Laurell, C. B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis. *Anal. Biochem.* **10**, 358-361 (1965)。
- 12) Mancini, G., Carbonara, A. O. and Heremans, J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* **2**, 235-254 (1965)。
- 13) Kunkel, H. G. and Ward, S. M.: The immunological determination of human albumin in biological fluids. *J. Biol. Chem.* **182**, 597-604 (1950)。
- 14) Berkowitz, D. and Sklawoff, D.: The use of radioactive fat in the study of absorption in various disease state. *Arch. Int. Med.* **100**, 951-958 (1957)。
- 15) 浦沢喜一, 登坂松三, 山田弘仁, 野間昭夫, 安斎哲郎, 和田武雄: 高齢者における脂肪の消化・吸収能に関する研究。高齢医学 **7**, 91-97 (1970)。
- 16) Teodor, E., Spitz, N. and Sleisenger, M. N.: Metabolism of intravenous by injected isotopic cholic acid in viral hepatitis. *Gastroenterol.* **55**, 183-190 (1968)。
- 17) Jeffris, G. H., Waser, E. and Sleisenger, M. H.: Malabsorption. *Gastroenterol.* **56**, 777-798 (1969)。
- 18) 野崎 学: 肝硬変, とくに腹水貯留時における脂質代謝異常についての臨床的ならびに実験的研究。肝臓 **10**, 404-417 (1969)。
- 19) Astald, G. and Strosselli, E.: Peroral biopsy of the intestinal mucosa in hepatic cirrhosis. *Am. J. Dig. Dis.* **5**, 603-612 (1960)。
- 20) Baraona, E., Orrego, H., Fernandez, O., Aménabar, E., Maldonado, E., Tag, F. and Salinas, A.: Absorptive function of the small intestine in liver cirrhosis. *Am. J. Dig. Dis.* **7**, 318-330 (1962)。
- 21) 吉利 和, 内藤周幸: 高脂血症に関する 2・3 の問題。最新医学 **28**, 693-699 (1973)。
- 22) 坂上利夫, 今井 陽: 脂質の生化学。朝倉書店, 東京 (1966)。
- 23) 吉利 和, 内藤周幸: ネフローゼと脂質代謝異常。日本臨牀 **21**, 447-470 (1963)。
- 24) Baxter, J. H., Goodman, H. C. and Havel, R. J.: Serum lipid and lipoprotein alterations in nephrosis. *J. Clin. Invest.* **39**, 455-465 (1960)。
- 25) Constantinides, P., So, Y. and Johnstone, F. R. C.: Role of liver and kidney in development of heparin-induced lipemic clearing activity (LCA). *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **100**, 262-264 (1959)。
- 26) Cornnov, W. E. and Ekstein, J. W.: The removal of lipoprotein lipase from the blood by the normal and disease liver. *J. Clin. Invest.* **38**, 1746-1755 (1959)。
- 27) Goodman, D. S.: The interaction of human serum albumin with long chain fatty acid anions. *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 3892-3898 (1958)。
- 28) Spector, A. A., John, K. and Fletcher, J. E.: Binding of long-chain fatty acids to bovine serum albumin. *J. Lipid Res.* **10**, 56-67 (1969)。

- 29) Hubbard, R. W. and Mattnew, W. T.: Inhibition of fat cell lipolysis by low FFA to albumin ratios. *Lipids* **6**, 274-276 (1971).
- 30) Metz, S. H. M., Mulder, I. and Van den Bergh, S. G.: Regulation of lipolysis in bovine adipose tissue by the degree of saturation of plasma albumin with fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **306**, 42-50 (1973).
- 31) Bogdonoff, D., Linhart, J., Klein, R. F., Esters, E. H. Jr. and Durham, N. C.: The effect of serum albumin infusion upon lipid mobilization in the nephrotic syndrome in man. *J. Clin. Invest.* **40**, 1024-1025 (1961).
- 32) Shafrir, E.: Partition of unesterified fatty acids in normal and nephrotic syndrome serum and its effect on serum electrophoretic pattern. *J. Clin. Invest.* **37**, 1775-1782 (1958).
- 33) Rosenman, R. H., Byers, S. D. and Friedman, M.: Plasma lipid interactions in experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.* **36**, 1558-1565 (1957).